



FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR Y AMBIENTALES
UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

TÉCNICAS DE CULTIVO EN INSTALACIONES ACUÍCOLAS



Olga M^a Payán Pérez

TRABAJO FIN DE MÁSTER

MÁSTER UNIVERSITARIO EN ACUICULTURA Y PESCA

JULIO 2020



TÉCNICAS DE CULTIVO EN INSTALACIONES ACUÍCOLAS

Memoria presentada por Olga M^a Payán Pérez para la obtención del Título de Máster
Universitario en Acuicultura y Pesca de la Universidad de Cádiz.
(Perfil Profesional)

Fdo.: Olga M^a Payán Pérez
Puerto Real a 13 de Julio de 2020

TRABAJO FIN DE MÁSTER (PERFIL PROFESIONAL)
MÁSTER UNIVERSITARIO EN ACUICULTURA Y PESCA

Dr. Juan Miguel Mancera Romero, Director del Servicio Central de Investigación en Cultivos Marinos (SCI-CM) de la Universidad de Cádiz y D. Mariano García De Lara, Director técnico del Servicio Central de Investigación en Cultivos Marinos (SCI-CM) de la Universidad de Cádiz, como Tutores del Trabajo Fin de Máster titulado “Técnicas de cultivo en instalaciones acuícolas”, realizado por Olga M^a Payán Pérez,

INFORMAN:

Que el trabajo realizado en la presente memoria se ha llevado a cabo bajo nuestra tutorización en las dependencias del Servicio Central de Investigación de Cultivos Marinos (SCI-CM) de la Universidad de Cádiz.

Y para que así conste, firmamos el presente informe en Puerto Real, a 13 de Julio de 2020.



Fdo.: Dr. Juan Miguel Mancera Romero
Tutor académico



Fdo.: D. Mariano García De Lara
Tutor de empresa

TRABAJO FIN DE MÁSTER (PERFIL PROFESIONAL)
MÁSTER UNIVERSITARIO EN ACUICULTURA Y PESCA

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Ubicación del SCI-CM	5
1.2. Descripción de las instalaciones	5
1.2.1. Servicio de Producción y Experimentación con Peces Marinos.....	6
1.2.2. Servicio de Producción y Experimentación de Microalgas Marinas y Dulceacuícolas	11
2. MEMORIA DE ACTIVIDADES	12
a. Cultivo de peces	13
b. Cultivo de fitoplancton.....	23
c. Cultivo de zooplancton.....	30
d. Otras labores	36
3. TRABAJOS EXPERIMENTALES	37
3.1 Proyectos de Investigación.....	38
3.1.1. Lenguados	38
3.1.2. Doradas	41
3.2. Mejora continua.....	44
3.2.1. Microalgas	44
3.2.2. Artemia.....	48
4. CONCLUSIONES Y VALORACIÓN PERSONAL	51
5. BIBLIOGRAFÍA.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización del SCI-CM en la Universidad de Cádiz (fuente: SCI-CM).....	5
Figura 2. Plano del SCI-CM, con las distintas Unidades de cada uno de los dos Servicios (fuente: SCI-CM).	6
Figura 3. Unidad de captación y distribución de agua de mar (fuente: SCI-CM).....	7
Figura 4. Sistema de Paneles Solares Híbridos (fuente: SCI-CM).....	8
Figura 5. Tanques de reproducción de peces con control de fotoperiodo y termociclo de agua (fuente: SCI-CM).	9
Figura 6. Unidad de tanques experimentales (fuente: SCI-CM).	9
Figura 7. Unidad aislada para cultivos de zooplancton (fuente: SCI-CM).	10
Figura 8. Cámara de microalgas (fuente: SCI-CM).....	11
Figura 9. Consola del Pacific (a la izq.) y sensor de temperatura y oxígeno (a la dcha.) (fuente: SCI-CM).	17
Figura 10. Muestreo de reproductores de <i>Sparus aurata</i> (fuente: propia).....	19
Figura 11. Colector de huevos (fuente: SCI-CM).	21
Figura 12. Probeta en la que se diferencian los huevos flotantes (zona superior) y los no flotantes (zona inferior) (fuente: propia).	22
Figura 13. Cepas de microalgas en gradillas (fuente: SCI-CM).....	24
Figura 14. Vórtex donde se agitan las cepas (fuente: SCI-CM).	25
Figura 15. Escalado estándar de los cultivos de microalgas para su uso en Acuicultura (fuente: FAO).	26
Figura 16. Autoclaves (fuente: SCI-CM).	27
Figura 17. Resiembra de cultivo de microalgas (fuente: SCI-CM).....	28
Figura 18. Calentador magnético donde se lleva a cabo la preparación de los medios de cultivo (fuente: SCI-CM).	29
Figura 19. Lavado de quistes de artemia en tamiz de 132 μ m (fuente: propia).....	32
Figura 20. Estadios de la artemia (fuente: zootecniadomestica).....	33
Figura 21. <i>Brachionus rotundiformis</i> (izq.) y <i>B. plicatilis</i> (dcha.) (Lubzens y Zmora, 2003).	34
Figura 22. Cubos donde se encuentran los matraces con el cultivo de rotíferos (fuente: SCI-CM).....	35
Figura 23. Tanques donde se distribuyeron los lenguados (fuente: SCI-CM).....	39
Figura 24. Muestro biométrico de los ejemplares (fuente: propia).....	39
Figura 25. Inoculación animales (fuente: propia).	40
Figura 26. Extracción de sangre (a la izq.) y paquete visceral (a la dcha.) de un ejemplar de <i>Solea senegalensis</i> (fuente: propia).	41

Figura 27. Tanques donde se distribuyeron las doradas (fuente: SCI-CM).	42
Figura 28. Obtención de paquete visceral en un ejemplar de dorada (fuente: propia). 43	
Figura 29. Matraces de 2L, 1L y ½ L con diferentes cultivos de microalgas (fuente: propia).	45
Figura 30. Tubos de metacrilato que contienen Tetraselmis chuii en un medio con agua 3:1 (2 tubos de la izq.) y en un medio de agua sin mezcla (2 tubos de la dcha.) (fuente: propia).	45
Figura 31. Cámara Thoma (fuente: insilico).	46
Figura 32. Troncos cónicos donde se realizan las dos descapsulaciones (tanque experimento a la izq. y tanque control a la dcha.) (fuente: propia).	49
Figura 33. Placa de Petri con nauplius de artemia en lupa binocular para proceder al recuento (fuente: propia).	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Colección de especies de microalgas del SCI-CM</i>	30
Tabla 2. <i>Recuento celular Chaetoceros calcitrans (cels/ml)</i>	47
Tabla 3. <i>Recuento celular Tetraselmis chuii (cels/ml)</i>	47
Tabla 4. <i>Recuento celular Isocrysis sp. (cels/ml)</i>	48
Tabla 5. <i>Recuento celular Nannochloropsis gaditana (cels/ml)</i>	48
Tabla 6. <i>Resultados obtenidos en el experimento</i>	50

RESUMEN

El Servicio Central de Investigación en Cultivos Marinos (SCI-CM) constituye un centro de Experimentación Animal registrado como Establecimiento de Cría, Suministrador y Usuario de animales de experimentación desde el año 2002, reconocido como Núcleo Zoológico con el Código REGA: ES110280000312 desde el año 2010. El SCI-CM da apoyo tanto a proyectos docentes como de investigación llevados a cabo por los distintos Departamentos de la Universidad de Cádiz, así como a otras Universidades, organismos públicos de investigación (OPIs) y empresas del sector acuícola. Se ha realizado un periodo de prácticas comprendido entre el 2 de mayo y 13 de diciembre de 2019 en el que se ha llevado a cabo diversas actividades propias de una planta de cultivos marinos relacionadas con el cultivo de peces marinos, fitoplancton y zooplancton. Además, durante mi estancia he podido colaborar con el grupo de investigación de la Dra. M^a del Carmen Balebona de la Universidad de Málaga ayudando en un experimento relacionado con la inmunogenicidad de dos proteínas aisladas de *Photobacterium* en lenguados (*Solea senegalensis*). Igualmente, colaboré con un experimento realizado por la estudiante doctoral D^a Rocío Robles sobre la influencia del contenido graso de la dieta y la suplementación de sales biliares en la digestión de lípidos en la dorada (*Sparus aurata*). Por último, también se ha realizado experimentos con microalgas y artemia que suponían mejoras internas para el SCI-CM.

ABSTRACT

The “Servicios Centrales de Investigación en Cultivos Marinos” (SCI-CM) is a Center of Animal Experimentation registered as a production establishment, supply and user of animals of experimentation since 2002, recognized as Zoological Core Center with Code REGA: ES110280000312 since 2010. SCI-CM supports both teaching and research projects carried out by the different Departments of the University of Cádiz, as well as other Universities, public research organizations (OPIs) and companies in the aquaculture sector. A training period has been carried out between May 2 and December 13, 2019 in which typical activities of a marine culture plant related to the cultivation of marine fish, phytoplankton and zooplankton have been carried out. During my stay I collaborated with the research group of Dr. M^a del Carmen Balebona from the University of Malaga in an experiment related to the immunogenicity of two proteins isolated from *Photobacterium* using sole (*Solea senegalensis*) specimens. In addition, I also collaborated in another project of research of PhD student Rocío Robles on the influence of dietary fat content and bile salt supplementation on lipid digestion in sea bream (*Sparus aurata*). Finally, experiments have also been carried out with microalgae and brine shrimp that meant internal improvements for the SCI-CM.

1. INTRODUCCIÓN

La realización de las prácticas tuvo lugar en el Servicio Central de Investigación en Cultivos Marinos (SCI-CM) de la Universidad de Cádiz, en el periodo comprendido entre el 2 de mayo y el 13 de diciembre de 2019. El SCI-CM constituye uno de los cinco Servicios Centrales de Investigación de la Universidad de Cádiz.

El SCI-CM es un Servicio de Experimentación Animal registrado como Establecimiento de Cría, Suministrador y Usuario de animales de experimentación desde el año 2002 con los códigos CA/3/U y CA/4/CS en la Conserjería de Agricultura y Pesca, dentro de la Dirección General de la Producción Agraria del Servicio de Sanidad Animal desde el 29 de julio de 2003. También es un “Núcleo Zoológico” con el Código de Explotación REGA ES11028000312, a nivel europeo, desde mayo de 2010, el cual se renovó en octubre de 2017 por diez años más. Todo personal adscrito al mismo está homologado con las diferentes categorías de experimentación animal según exige el Real Decreto 53/2013.

El SCI-CM también está acreditado con las siguientes certificaciones: i) Gestión de Calidad según la Norma UNE-EN-ISO 9001:2015 e integrados en la Norma UNE-EN-ISO14001 de Gestión Medio Ambiental de la Universidad de Cádiz; ii) Gestión en I+D+i según la Norma UNE 166002:2006, Sistema de Gestión Ética y Socialmente Responsable, Norma SGE 21:2008; iii) certificado Nº 210/16 por FORÉTICA desde el 2016, siendo el primer Servicio o Unidad de una Universidad Española Pública que lo posee.

Los servicios ofertados por el SCI-CM incluyen técnicas de cultivos de especies marinas, realización de actividades relacionadas con el apoyo a los proyectos Docentes y de Investigación llevados a cabo por los distintos Departamentos de la Universidad de Cádiz, así como con otras Universidades, organismos públicos de investigación (OPIs) y empresas del sector acuícola.

Durante el periodo de prácticas se realizaron las actividades propias de una planta de cultivos marinos, además de colaborar en experimentos realizados por diversos Grupos de Investigación y de realizar otros que suponían mejoras internas para el SCI-CM. Todas estas actividades serán explicadas en detalles en el apartado 2 del presente TFM.

1.1. Ubicación del SCI-CM

El SCI-CM está situado en la planta sótano, pala C, del Centro Andaluz superior de estudios Marinos, en el Campus de Puerto Real de la Universidad de Cádiz.



Figura 1. Localización del SCI-CM en la Universidad de Cádiz (fuente: SCI-CM).

1.2. Descripción de las instalaciones

El SCI-CM posee una superficie de 1000 m² aproximadamente, y se organiza en dos Servicios: i) Servicio de Producción y Experimentación con Peces Marinos, y ii) Servicio de Producción y Experimentación de Microalgas Marinas y Dulceacuícolas. Estos Servicios presentan, a su vez, diferentes Unidades.

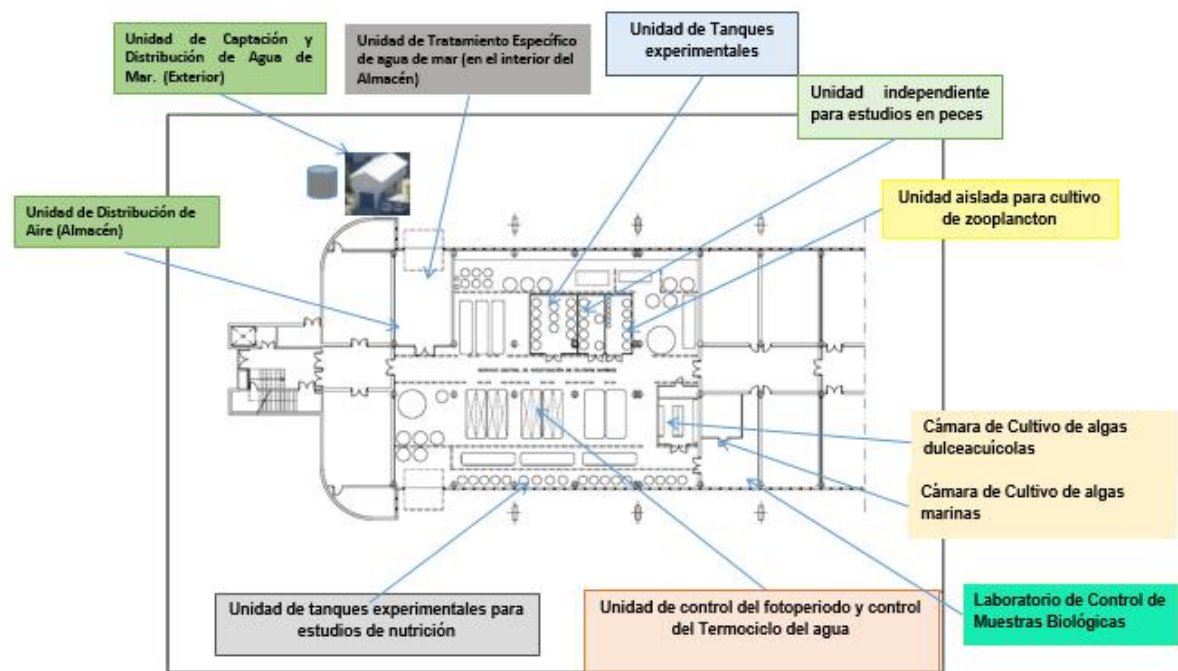


Figura 2. Plano del SCI-CM, con las distintas Unidades de cada uno de los dos Servicios (fuente: SCI-CM).

1.2.1. Servicio de Producción y Experimentación con Peces Marinos

Las instalaciones están ubicadas en la nave de cultivo principal de 650,4 m² de superficie y consta de las siguientes unidades:

- **Unidad de captación y distribución de agua de mar.** Está ubicada en el exterior de la instalación, a 50 metros, en una caseta con una superficie de 500 m². Consta de:
 - Dos circuitos de distribución de agua salada independientes de tuberías de PVC que conecta los tanques de distribución con la planta de cultivos, lo cual permite disponer de un sistema de bioseguridad que garantiza un aporte continuo de agua de mar en caso de que exista algún problema o se lleven a cabo labores de limpieza en alguno de ellos.
 - Dos pozos de extracción de agua salada mediante bombas sumergidas a 40 metros de profundidad con un caudal variable entre 15-30 m³/h entre las dos, esta profundidad confiere al agua de un marcado carácter salino con unos valores medios anuales de 37 g/L. La temperatura oscila a lo largo del año en torno a 19 °C, manteniéndose por lo tanto entre 18-20 °C. Dicha agua, nula en oxígeno, es bombeada a dos tanques de distribución de 10 m³ de capacidad cada uno, permitiendo de esta forma su oxigenación parcial antes de ser

distribuida por gravedad hacia la planta de cultivos a través del sistema de abastecimiento. Una vez que el agua llega a la planta, se aumenta su concentración de oxígeno mediante la colocación de piedras porosas de aireación en el perímetro de cada tanque, manteniendo así los niveles de oxígeno disuelto siempre entre 6-7 mg/L.

- Panel de control automatizado y sistemas de alarma que permiten la parada y puesta en marcha de las bombas en función del agua demandada por la planta de cultivos marinos. Ambas bombas siempre se encuentran al mismo tiempo en funcionamiento o paradas.



Figura 3. Unidad de captación y distribución de agua de mar (fuente: SCI-CM).

- **Unidad de tratamiento específico del agua de mar.** Está compuesto por tres equipos intercambiadores de calor, y ochenta paneles solares híbridos (178,2 m²) que suministran tanto energía eléctrica renovable al CASEM, como agua caliente o fría al SCI-CM.



Figura 4. Sistema de Paneles Solares Híbridos (fuente: SCI-CM).

- **Unidad de distribución de aire.** Esta unidad se encuentra ubicada en el interior del almacén y consta de:
 - Cuatro bombas electro soplantes, cuyo funcionamiento es alternativo.
 - Red de tuberías de PVC que distribuyen el aire por todo el SCI-CM.
- **Unidad de tanques experimentales para estudios de nutrición.** Consistida por un total de dieciocho tanques de 450L provistos de un sistema de monitorización de concentración de oxígeno disuelto y temperatura.
- **Unidad de tanques con control de fotoperiodo y del termociclo de agua.** Están ubicados en el interior de la planta de cultivos y utilizados para mantener el stock de reproductores y estimular su maduración y puesta. Esta unidad está formada por cuatro tanques de 10 m³ los cuales disponen de una estructura de cerramiento que permite aislarlos del fotoperiodo de los tanques colindantes y de un sistema de iluminación programables independientes del resto de la planta.



Figura 5. Tanques de reproducción de peces con control de fotoperiodo y termociclo de agua (fuente: SCI-CM).

- **Unidad de control de fases embrionarias.** Zona destinada para la incubación y eclosión de huevos y mantenimiento de fases embrionarias. Está provista de seis tanques cilíndricos de 350L.
- **Unidad de tanques experimentales.** Sala cerrada ubicada en el interior de la planta de cultivos. Consta de:
 - Nueve tanques cilíndricos de 450L.
 - Equipo de monitorización de parámetros de oxígeno y temperatura, así como control de fotoperiodo.



Figura 6. Unidad de tanques experimentales (fuente: SCI-CM).

- **Unidad independiente para estudios de peces.** Sala ubicada en el interior de la planta de cultivos. Consta de:
 - Cinco tanques cilíndricos de 450L.
 - Equipo de monitorización de parámetros de oxígeno y temperatura, así como control de fotoperiodo.
- **Unidad aislada para cultivo de zooplancton:** cámara ubicada en el interior de la planta de cultivos. En ella se lleva a cabo el cultivo y producción de Artemia y Rotífero. Consta de cuatro tanques cilíndricos de 350L y cuatro tanques cilíndricos de 50L.



Figura 7. Unidad aislada para cultivos de zooplancton (fuente: SCI-CM).

- **Unidad de tanques polivalentes.** Constituida por veintitrés tanques cilíndricos de 1, 5 y 10 m³.

1.2.2. Servicio de Producción y Experimentación de Microalgas Marinas y Dulceacuícolas

- **Unidades de cultivo de microalgas:** dos instalaciones independientes con una superficie de 12,5 m² cada una, las cuales constan de:
 - Circuito interno de aireación conectado a un sistema de suministro de CO₂.
 - Sistema de fotoperiodo programable de luces LED.
 - Sistema de climatización automatizado que permite una temperatura constante en las salas de 19 °C aproximadamente.



Figura 8. Cámara de microalgas (fuente: SCI-CM).

Además existe un Laboratorio de control de muestras biológicas de 53,01 m², común para ambos servicios y un Almacén de materiales de 53 m² anexo a la planta de cultivos y en el que se encuentra tratamiento de agua de mar, productos de limpieza y material de bioseguridad.

2. MEMORIA DE ACTIVIDADES

Durante mi periodo de prácticas han sido diversos los servicios solicitados al SCI-CM por medio del Centro de Atención al Usuario (CAU). Cada uno de estos servicios conlleva un importante desarrollo de trabajo por parte del personal del laboratorio, del que fui partícipe durante mi estancia y que a continuación paso a relacionar, aprovechando de este modo para dar mayor visibilidad y puesta en valor del papel del SCI-CM en apoyo del ámbito docente e investigador en la Universidad de Cádiz.

a. Cultivo de peces

Los Servicios prestados referentes a peces marinos y destinados a la investigación han sido los siguientes:

- Preparación de tanques para la realización de un experimento con lubina (*Dicentrarchus labrax*) en la unidad de tanques experimentales.
- Preparación de seis tanques en la unidad de tanques experimentales para un experimento con lubinas.
- Preparación de cuatro tanques con siete lenguados (*Solea senegalensis*) cada uno, para la realización de un experimento, el cuál esta detallado en el apartado 3.1.1 del presente TFM.
- Preparación de seis tanques en la unidad de tanques experimentales para un experimento con doradas (*Sparus aurata*), el cual está detallado en el apartado 3.1.2 del presente TFM.
- Preparación de tanques para 400 doradas y su posterior mantenimiento hasta que parte de ellos fueron pasados a tanques experimentales.
- Preparación de nueve tanques en la unidad de tanques experimentales para un experimento de nutrición.
- Preparación de quince tanques en la unidad de tanques experimentales para la realización de estudios de nutrición.

Para que el PDI pueda hacer uso de estos tanques (tanto experimentales como de mantenimiento) las labores necesarias han sido: i) establecer el número de renovaciones en los tanques y el fotoperiodo, ii) colocación del sistema de aireación (macarrones y piedras de aireación), iii) comederos en el caso de que la alimentación no sea manual, iv) sensor de temperatura y oxígeno disuelto, y v) tubos de entrada, de desagüe y central.

En el caso de las renovaciones son las veces al día que se tiene que renovar totalmente el agua de un tanque. El número de renovaciones es muy variable, y depende de la especie, tamaño, carga, etc. Para establecer las renovaciones necesito calcular previamente el caudal. Una vez por semana se controla el caudal (en seg/2L) en cada tanque, asegurando así el número de renovaciones de agua para que cada unidad de cultivo se mantenga en las condiciones óptimas que garanticen el bienestar animal, ya que la renovación influye en la concentración de O₂ disuelto y en la concentración de productos de desecho o material particulado presentes en el tanque, favoreciendo un aumento de lo primero y una disminución de lo segundo.

Otros de los servicios solicitados al SCI-CM referentes a peces marinos y destinados a la investigación han sido:

- Mantenimiento de una población de doradas para un experimento. Éste último está detallado en el apartado 3.1.2 del presente TFM.
- Mantenimiento de dos poblaciones de lubina a diferente temperatura que formaban parte de un experimento. Uno de los tanques tenía agua sin atemperar (18'5-19'5 °C) y el otro, agua fría (12 °C).
- Mantenimiento de un tanque con 500 ejemplares de lubina de dos gramos de peso medio para un futuro uso experimental.
- Mantenimiento de una población de lisas (*Mugil cephalus*).
- Suministro de catorce doradas de 150-300 gramos.
- Suministro de una dorada de 50 gramos.
- Suministro de cincuenta doradas de 20 gramos.
- Suministro de lenguados maduros de ambos sexos.
- Suministro de huevos de dorada.

Por su parte, los servicios prestados por el SCI-CM destinados a la docencia han sido los siguientes:

- Suministro de ocho lubinas de 100 gramos para la asignatura de Biología en el Grado de Ciencias Ambientales.
- Suministro de huevos y larvas de dorada para Biología del Grado de Biotecnología, Ciencias del Mar, Ciencias Ambientales, Enología y Química.
- Entrega de ocho lubinas de 1.500 kilogramos para su uso en el módulo de Reproducción y Bioseguridad en Acuicultura del Máster de Acuicultura y Pesca.

Para prestar estos servicios de mantenimiento y suministro de peces en el SCI-CM se requiere desarrollar una serie de tareas que se describen a continuación.

El mantenimiento de los tanques incluye el sifonado y limpieza de los tanques, comprobación que los sistemas de aireación y abastecimiento de agua funcionan correctamente, control de los parámetros físico- químicos (fotoperiodo, temperatura, O₂, salinidad y pH), alimentación (comprobar también que los comederos funcionan correctamente) y muestreos.

Un buen mantenimiento de los tanques es imprescindible para poder prestar el servicio de suministro de peces.

El sifonado de los tanques es un proceso rutinario que se lleva a cabo diariamente para mantener los tanques en condiciones óptimas de limpieza, garantizando así la calidad de agua y por tanto el bienestar animal. El sifonado del tanque, en el argot acuícola, consiste en retirar restos de heces y alimento sobrante con ayuda de un sifón (tubo de PVC conectado a una manguera) que mediante el principio de los vasos comunicantes aspira el agua del tanque hacia fuera. En este proceso, además se aprovecha para eliminar la suciedad acumulada en el borde del tanque con ayuda de una bayeta, eliminar posible resto de pienso del comedero y una vez por semana limpiar con el cepillo el fondo y paredes del tanque para evitar las incrustaciones. Tras esto se enjuaga todo el material utilizado.

Tras su uso las bayetas son depositadas en un cubo con hipoclorito sódico que al final del día se retira y se enjuagan con agua.

El sifón una vez utilizado es depositado en un tanque cilíndrico de 1 m³ con agua y un medio desinfectante (detergente amoniacal), renovándose una vez por semana.

El cepillo se deposita en otro tanque cilíndrico de 1 m³ que igualmente contiene detergente amoniacal y es renovado cada semana.

Las piedras porosas se cambian cuando se observa que tienen demasiada suciedad y se depositan en un cubo son ESLAP para desincrustar, lavándolas con agua a presión a las 24 horas para retirar el resto de ácido.

La limpieza en una planta de cultivos marinos constituye una medida de bioseguridad ya que de esta manera evitamos la contaminación del material y propagación de patologías entre los tanques en el caso de que existieran.

En cuanto al control de los parámetros físico-químicos, semanalmente se miden y controlan cada uno de ellos. La lectura del oxígeno disuelto se realiza con un oxímetro tres veces por semana en cada una de las unidades de cultivo, midiendo tanto la entrada como la salida del agua. La medida de la salinidad (con un conductímetro), la del pH (con un pH-metro) y temperatura (con un oxímetro) se realiza una vez por semana tan solo en dos tanques al azar ya que los valores de temperatura y salinidad son muy estables en el SCI-CM.

Para asegurar la fiabilidad de las lecturas, se realiza un mantenimiento continuo (limpieza y calibrado) de los instrumentos utilizados.

El SCI-CM posee un sistema automatizado llamado Oxyguard Pacific (Fig. 9) que permite la monitorización en continuo de la temperatura, concentración de oxígeno disuelto y tanto por ciento de saturación de oxígeno, mediante un sensor colocado en los tanques.



Figura 9. Consola del Pacific (a la izq.) y sensor de temperatura y oxígeno (a la dcha.) (fuente: SCI-CM).

La preparación del alimento la lleva a cabo diariamente un técnico especialista siguiendo una tabla de alimentación la cuál ha sido elaborada por el Director Técnico del SCI-CM.

Tanto el tipo y tamaño de pienso como el número de tomas y la dosis, va a depender del peso del animal, de la especie y de la temperatura.

El tamaño de pienso va a depender del tamaño de la boca del pez y esto me lo va a indicar el peso medio de la población. La temperatura del agua del tanque también influirá en la dosis ya que al ser los peces animales poiquiloterms existe una relación directa entre el metabolismo y la temperatura del agua, lo que significa que a mayor temperatura mayor será la ingesta al ir el metabolismo más rápido y viceversa. En el caso de temperaturas extremas (bajas o altas) los peces dejan de alimentarse debido al estrés que le produce la situación.

Las tablas de alimentación están ajustadas a 19 °C, temperatura media del agua en el SCI-CM. Los peces de la planta de cultivos tienen las siguientes dietas:

- Pienso: Se coloca diariamente a primera hora en los comederos. En el caso de doradas y lubinas se utilizan comederos de cuerda de 12 horas mientras que para los lenguados se utilizan comedero de cuerda de 24 horas (poseen hábitos nocturnos), repartiendo la dosis de forma continua, en dos o tres tomas.

- Alimento fresco: Calamar, mejillones y miñoca. El proceso de alimentación es *ad libitum* y se les da a los lotes de reproductores de doradas, lubinas y lenguados.
- Alimento vivo (Zooplancton): Solo para alimentación larvaria.

Por último, los muestreos tienen como finalidad el control y seguimiento de las diferentes poblaciones. Mediante esta actividad podemos conocer la evolución de la talla y el peso de los ejemplares, así como su estado de maduración y sanitario en el caso de los reproductores. Con los datos obtenidos en el muestreo (peso medio, biomasa, carga del tanque) podemos establecer las renovaciones del tanque así como la dosis de alimentación y tipo de pienso que requiere cada población. Además, obtenemos el índice de Fulton, que nos da idea del estado de maduración de las hembras, ya que en épocas de reproducción sobre todo las hembras pesan más debido a la gónada.

El protocolo para realizar un muestreo es el siguiente:

- Dejar 24 horas en ayunas los peces a muestrear.
- Preparar previamente el tanque donde se trasladarán a los peces muestreados (agua, caudal, aireación y comedero).
- Preparar el estadillo donde se apuntarán los datos del muestreo, así como el material que vamos a utilizar, que lo colocaremos en una mesa (anestésico, probeta y pipeta Pasteur, tanque o cubo auxiliar, ictiómetro, balanza, bandeja, salabar y lector de microchip si fuera necesario).
- El cubo o tanque auxiliar tendrá un volumen de agua (misma salinidad y temperatura que el tanque madre) y dosis de anestésico acorde a la especie y tamaño del animal. El anestésico utilizado es aceite de clavo o Fenoxietanol.
- Normalmente antes de iniciar el muestreo se baja el nivel de agua del tanque madre y se vierte una pequeña dosis de anestésico para así disminuirle el estrés a los peces y facilitar la captura.
- Tras esto se procede a la captura de los ejemplares con un salabar y se deposita en el tanque auxiliar, esperamos a que el anestésico haga efecto y lo cogemos

de uno en uno para pasarlo a la mesa, en el caso que tenga microchip le pasamos el lector para identificarlo.

- Una vez en la mesa, lo medimos en el ictiómetro y pesamos en la balanza, después observamos el estado de maduración y si tiene alguna herida en el caso de los reproductores, y lo apuntamos todo en el estadillo de muestreo. Si el pez tiene alguna herida se trata en la medida de lo posible con Clortetraciclina y Blastostimulina.
- Por último, depositamos al pez en un nuevo tanque limpio preparado donde se recuperan y estarán hasta el próximo muestreo o traslado.
- Se sigue con el mismo procedimiento hasta haber muestreado a todos los ejemplares de la población en el caso de los reproductores, o a una parte de ella en los demás casos.

El material del tanque, donde se encontraban los peces antes de su muestreo, se deposita en un cubo con ESLAP para desincrustar la suciedad acumulada y a las 24 horas se saca y se enjuaga con agua dulce.

El material utilizado en el muestreo (balanza, ictiómetro, bandeja, mesa de trabajo, tanque auxiliar) se limpia y desinfecta una vez que haya terminado este. El salabar se deposita en un tanque de desinfección.



Figura 10. Muestreo de reproductores de *Sparus aurata* (fuente: propia).

Para poder prestar el servicio de suministro de huevos y larvas, es necesario el mantenimiento de stocks de reproductores. En el SCI-CM se lleva a cabo el mantenimiento de varios stocks de reproductores de peces de interés acuícola como son dorada, lubina y lenguado. Estos stocks se encuentran en los tanques rectangulares de 10 m³ en el caso de las doradas y lubinas, y en el caso de los lenguados se encuentran en tanques rectangulares de 5 y 10 m³. Cada tanque tiene su regulación propia de fotoperiodo y temperatura.

- **Dorada:** El SCI-CM cuenta con dos lotes de reproductores de doradas (Lote A y Lote B). Las condiciones de cultivo son idénticas en ambos casos, diferenciándose en el fotoperiodo que se encuentra desfasado temporalmente, con el fin de obtener puestas prácticamente durante todo el año.

Las doradas tienen puesta asincrónica durante 5-6 meses, según la duración del fotoperiodo corto (8 horas de luz y 16 horas de oscuridad), el cual se establece para estimular la maduración y puesta del lote. Pasado este tiempo, se les cambia a fotoperiodo largo (16 horas de luz y 8 horas de oscuridad). El cambio de fotoperiodo corto a largo, y viceversa, tiene lugar de forma no gradual, por lo que los ejemplares van aclimatándose y madurando gradualmente, aproximadamente tres meses después de comenzar con fotoperiodo corto comienzan a poner. La temperatura del tanque es de 18'5-19'5 °C.

- **Lubina:** Solo existe un lote de reproductores de lubina. Poseen un ciclo anual de termoperiodo y fotoperiodo acoplados, simulando las condiciones naturales. La temperatura del tanque oscila entre 15-23 °C. La puesta de la lubina es sincrónica por lotes, con una duración aproximada de 2-3 meses en invierno.
- **Lenguado:** Existen 2 lotes de reproductores de lenguados. Al igual que las lubinas, tienen un ciclo anual de termoperiodo y fotoperiodo acoplados, simulando las condiciones naturales. La temperatura de los tanques oscila entre 15-21 °C. La puesta del lenguado es en primavera.

En el caso de trabajar con stocks de lenguados el mantenimiento es el mismo que el citado anteriormente, pero hay que incluirle: colocación de rafias de sombreado en el tanque, someter a baños profilácticos con Peróxido de Hidrógeno (una vez a la semana) y agua dulce (diariamente) así como depositar arena en el fondo del tanque.

La arena antes de ser utilizada se vuelca en un cubo y es desinfectada con hipoclorito sódico durante una semana.

Una vez que los reproductores maduran y realizan la puesta en el tanque, los huevos flotan y salen por el desagüe superficial, por lo que se coloca un colector de huevos (Fig. 11) con una malla de 500 μm para que queden retenidos en él.



Figura 11. Colector de huevos (fuente: SCI-CM).

Para comprobar la cantidad y calidad de los huevos, se vierte el contenido del colector a una probeta, de volumen conocido, y se deja que se separen por flotación diferencial unos minutos. Pasado este tiempo podemos observar cómo los huevos flotantes (que pueden ser viables o no) se sitúan en la parte superior de la probeta y los no flotantes (y por tanto no viables) decantan y van al fondo, tal y como podemos ver en la figura 12.



Figura 12. *Probeta en la que se diferencian los huevos flotantes (zona superior) y los no flotantes (zona inferior) (fuente: propia).*

El conteo de huevos en la planta de cultivos esta estandarizado, al medir cada huevo aproximadamente 1 mm de diámetro, establecemos que 1 mL de la probeta empleada equivale a unos 1000 huevos. Así que con solo observar el volumen que ocupan los huevos en la probeta podemos extrapolar ese dato para estimar el número total de huevos flotantes obtenidos en la puesta.

Tras esto, los huevos flotantes se depositan en los tanques de incubación (tanques cilíndricos de 350L). Este posee una malla central de 500 micras para evitar que los huevos se pierdan y una ficha control de puesta y eclosión en su exterior. Pasadas 24 horas, retiramos la aireación del tanque para que decanten los huevos que han tenido un mal desarrollo y así eliminar los huevos no viables que decantan al fondo haciendo una purga. Pasadas 48 horas tras la puesta, las larvas eclosionan en los mismos tanques de incubación a 19°C.

Por último, para poder llevarse a cabo experimentos en los que se requiere agua fría o caliente hay que hacer uso de las climatizadoras y placas solares, además de un control diario y ajuste.

b. Cultivo de fitoplancton

Los servicios prestados referentes a fitoplancton y destinados a la investigación han sido los siguientes:

- Suministro de algas bioluminiscentes (*Pyrocystis lunula*).
- Suministro de 20L de *Tetraselmis chuii*
- Suministro de *Phaeodactylum tricornutum*
- Suministro de *Isocrysis* sp.

Además, los servicios prestados destinados a la docencia, tanto de la UCA como de otras Instituciones, han sido los siguientes:

- Proporcionar muestras de microalga *Isocrysis* sp. para su uso en prácticas de Biología animal y vegetal en el Grado de Biotecnología.
- Suministro de microalga *Tetraselmis chuii* para su uso en prácticas de Biología de los Grados de Química, Ciencias Ambientales y Ciencias del Mar.
- Suministro de microalga *Tetraselmis chuii* para su uso en prácticas del Grado de Enología.
- Suministro de *Tetraselmis chuii* para prácticas de Oceanografía Biológica.

Las actividades que se realizan en el SCI-CM para poder suministrar dichas microalgas han sido diversas y pueden dividirse en dos categorías: i) mantenimiento de cepas de cultivo y ii) escalado del cultivo.

i) Mantenimiento de cepas de cultivo

Se suele tener más de una copia de cada especie, una se manipula solo para su mantenimiento y la otra se utiliza para la producción, en esta última es donde comenzaría el cultivo de escalado que se lleva a cabo en el SCI-CM. Las cepas se encuentran en tubos de ensayos de vidrio, sin aireación.

Para mantener la cepa se realizan cada cierto tiempo reinoculaciones. A continuación explicamos cómo se realiza este proceso.

Antes de transferir la cepa al nuevo tubo de ensayo, estos se preparan con el medio de cultivo (agua de mar filtrada y enriquecida con F/2), y se esterilizan mediante aumento de temperatura y presión en el autoclave. Una vez esterilizados y antes de realizar la siembra de la cepa en los tubos se les añade vitaminas (B1+ B12).

La F/2 está formada por macronutrientes (cloruro férrico, nitrato y fostato) y micronutrientes (cloruro, cobre, zinc, cobalto, manganeso y sulfato).

Estos tubos se mantienen en la cámara de cultivo de microalgas colocados en gradillas (Fig. 13), con fotoperiodo de 24 horas de luz y a 19 °C.

El mantenimiento del banco de cepas requiere además la agitación en un vórtex (Fig. 14) dos- tres veces por semana, con el objetivo de evitar la decantación de larga duración y favorecer la disponibilidad de nutrientes, CO₂ y luz en el cultivo para que las microalgas puedan realizar la fotosíntesis.

Cuando se observa una elevada densidad del cultivo se procede al escalado.



Figura 13. Cepas de microalgas en gradillas (fuente: SCI-CM).



Figura 14. Vórtex donde se agitan las cepas (fuente: SCI-CM).

II) Escalado del cultivo

Estos cultivos, al igual que las cepas de microalgas, se mantienen en la cámara de cultivo de microalgas del SCI-CM, con fotoperiodo de 24 horas de luz y a 19 °C. Excepto las microalgas bioluminiscentes que se encuentran en otra cámara aparte y tienen fotoperiodo de aproximadamente 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad.

Existen tres volúmenes de cultivo:

- Pequeña escala, en matraces de 500 mL.
- Escala intermedia, en matraces de 2L (con aireación y aporte extra de CO₂).
- Gran escala, en tubos de metacrilato de 14L (con aireación y aporte extra de CO₂).

Los cultivos de pequeña escala no tienen aireación para mantener las condiciones estériles, pero cada día se agitan dos veces para minimizar la decantación.

Los cultivos de escala intermedia y gran escala tienen agitación/aireación y un aporte extra de CO₂, así evitamos que sedimenten y favorecemos la captación de luz por parte de todas las células, evitando así el “efecto sombra”.

La dosis de CO₂ se ajusta según el pH del cultivo. El pH del medio de cultivo tiene que estar en torno a 8, si este sube (se vuelve más básico) se le aumenta el aporte de CO₂ que es ácido y de esta forma hace que disminuya el pH y viceversa.

Diariamente, a primera hora de la mañana, se comprueba la aireación y el pH de la cámara de microalgas. Para comprobar que el pH es el correcto, se toman muestras de diferentes unidades de cultivo y se realiza la lectura de datos en el pHmetro.

Cada mañana, para decidir que se hace con cada unidad de cultivo de microalgas se observa la densidad celular, edad de cada uno de ellos, y se analizan las necesidades de producción (alimentación de zooplancton, de moluscos, peticiones PDI...). Si es necesario se realiza el escalado (Fig. 15). También existe la posibilidad de que los cultivos a gran escala estén muy densos y tengamos que renovarlos añadiendo medio fresco para mantener el cultivo en fase exponencial.



Figura 15. Escalado estándar de los cultivos de microalgas para su uso en Acuicultura (fuente: FAO).

Antes de realizar el escalado, hay que preparar los matraces destinados a los cultivos. Para ello se sigue el siguiente protocolo:

- Se llena un cubo, destinado exclusivamente para el uso de fitoplancton, con agua salada a la que se le disminuye la salinidad añadiéndole agua dulce en proporción 3:1 (6 litros de agua salada y 2 litros de agua dulce) y la mezclamos.
- Se rellenan los matraces destinados a los cultivos con la cantidad indicada de agua según las proporciones siguientes: 300 mL de agua en los matraces de 500 mL y 1500 mL de agua para los matraces de 2L de volumen.
- Se le añade al agua F/2 (1 mL/L) y silicato (1 mL/L), el silicato solo se añade si la microalga que vamos a cultivar es una diatomea porque necesitan formar una cubierta de sílice.
- Se les pone un tapón (algodón enrollado en gasa+ aluminio).

- Se esterilizan los matraces mediante la técnica del autoclavado (Fig. 16) (120 °C durante 20 minutos).
- Tras este proceso, y una vez atemperados, los matraces ya están listos para ser utilizados.



Figura 16. Autoclaves (fuente: SCI-CM).

Técnica de escalado y resiembra

- En cultivos de pequeña e intermedia escala:
 - En primer lugar, se desinfecta la mesa donde vamos a realizar la reinoculación o el desdoble, se prepara el bote de vitaminas y una pipeta Pasteur esterilizada.
 - Colocamos sobre la mesa los matraces Erlenmeyer que vamos a desdoblar y los que contienen el medio de cultivo estéril, los cuáles serán rotulados con la fecha y el número de resiembra y el nombre de la especie.
 - Encendemos el mechero Bunsen y encima de él se pipetea la vitamina (0,1 mL/L), luego se destapa el matraz que contiene el medio de cultivo estéril y se vierte sobre él la vitamina.
 - Tras esto, procedemos a la resiembra vertiendo la cantidad necesaria de cultivo de microalgas a desdoblar sobre el nuevo matraz con el medio de cultivo estéril. Este proceso tiene lugar cerca del mechero Bunsen para que permanezca el medio estéril y así evitar contaminación, tal y como se muestra en la figura 17.
 - Por último, se coloca el tapón en el matraz y se devuelve a la cámara de microalgas.



Figura 17. Resiembra de cultivo de microalgas (fuente: SCI-CM).

➤ En cultivos a gran escala:

- Preparamos un cubo con “agua 3:1” (3 partes de agua salada y una parte con agua dulce) y añadimos al agua F/2 (1 mL/L) y las vitaminas (0,1 mL/L).
- Añadimos al tubo de metacrilato el cultivo de microalgas que queremos desdoblar o escalar.
- Agregamos a este tubo de metacrilato el “agua 3:1” que contiene F/2 y las vitaminas. El volumen a añadir dependerá de la densidad del cultivo.
- En el caso de cultivos de diatomeas añadiremos en el tubo de metacrilato el silicado (1 mL/L) con una pipeta Pasteur estéril.
- A medida que el cultivo va creciendo se le irá añadiendo medio nuevo en días sucesivos.

Para que el cultivo sea exitoso y no se contamine es muy importante la limpieza del material que utilizamos. Tanto los matraces como los tubos de metacrilato son limpiados con ESLAP para desincrustar restos de cultivo viejo.

Anteriormente se han mencionado los diferentes medios de cultivos que se utilizan en el SCI-CM (F/2, vitaminas, silicato), estos también son preparados en el laboratorio constituyendo una labor más del personal.

El primer paso de este procedimiento es autoclavar todo el material que vaya a utilizarse.

Cada medio de cultivo tiene un protocolo de elaboración propio que ha de seguirse paso a paso y cuidadosamente. Este protocolo te indica los compuestos que hay que utilizar, la cantidad necesaria y el orden en el que hay que ir añadiéndolos.

Tras ser pesado cada componente en una balanza, se coloca un vaso de precipitado sobre un calentador magnético (Fig. 18) al cuál se le añade un agitador y el agua autoclavada previamente. Una vez que el agua esté caliente y el agitador en funcionamiento, se va añadiendo los compuestos paulatinamente para asegurar que se disuelvan correctamente.

Una vez que está todo disuelto, se apaga el calentador, se vierte el contenido del vaso precipitado en el bote y se introduce el medio preparado en el frigorífico.



Figura 18. Calentador magnético donde se lleva a cabo la preparación de los medios de cultivo (fuente: SCI-CM).

El SCI-CM cuenta con una colección de diversas especies de microalgas (Tabla 1), ya sea a nivel de cepas o cultivos masivos, además de las mencionadas anteriormente.

Tabla 1. Colección de especies de microalgas del SCI-CM

Clase	Especie
Prymnesiophyceae (Algas flageladas pardas)	<i>Isocrysis</i> sp. clon T-ISO
Prasinophyceae (Algas flageladas verdes)	<i>Tetraselmis suecica</i>
	<i>Tetraselmis chuii</i>
	<i>Tetraselmis</i> sp.
Clorophyceae (Algas verdes)	<i>Dunaliella Salina</i>
	<i>Nannochloris</i> sp.
	<i>Chlorella autotrophica</i>
Eustigmatophyceae (Algas verdes-amarillentas)	<i>Nannochloropsis gaditana</i> B-3
Cryptophyceae (Cryptomonas)	<i>Rhodomonas salina</i>
	<i>Rhodomonas baltica</i>
Bacillariophyceae (Diatomeas)	<i>Chaetoceros gracilis</i>
	<i>Chaetoceros</i> sp. clon U.K.
	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>
Microalgas Bioluminiscentes	<i>Pyrocystis lunula</i>
	<i>Pyrocystis noctiluca</i>

c. Cultivo de zooplancton

Los servicios prestados referentes a artemia y destinados a la investigación han sido los siguientes:

- Suministro de artemia adulta.
- Proporcionar nauplios de artemia.
- Suministro de metanauplios de artemia.

Por su parte, los servicios prestados destinados a la docencia han sido los siguientes:

- Suministro de artemia para su uso en prácticas de Biología de los Grados de Química, Ciencias ambientales y Ciencias del Mar.
- Suministro de artemia para su uso en prácticas del Grado de Enología.

Para poder prestar el servicio de suministro de artemia en diferentes estadios en el SCI-CM se lleva a cabo el cultivo y mantenimiento de este grupo de zooplancton.

La artemia (*Artemia salina*) es un crustáceo branquiópodo de interés acuícola, empleado principalmente para la alimentación larvaria de peces por su alto valor nutritivo.

Presentan un ciclo de vida asexual y sexual, en ambos casos los huevos comienzan a desarrollarse en el interior de la madre, pudiendo seguir dos procesos distintos de desarrollo:

- **Ovovivíparo** (condiciones ambientales favorables). El huevo se desarrolla íntegramente en el interior de la madre y nace directamente en forma de larva nauplius.
- **Ovíparo** (malas condiciones ambientales). El huevo se desarrolla en el interior de la madre hasta el estado gástrula. En ese momento el huevo detiene su desarrollo y se cubre con una cáscara denominada corion, siendo expulsado al exterior en forma de quiste.

En el SCI-CM estos organismos se obtienen a partir de la incubación de quistes comerciales. Estos quistes tras eclosionar dan lugar a nauplios de artemia.

El protocolo de obtención de nauplios llevado a cabo en la planta de cultivos es el siguiente:

- **Hidratación:** Consiste en introducir X gramos de quistes, según los nauplios que queremos obtener, durante 60-90 minutos en agua dulce con aireación intensa. Este proceso se hace para activar el desarrollo del nauplio e inflar el quiste para que así la lejía en el siguiente paso pueda actuar sobre todo el quiste.
- **Descapsulación:** Tras la hidratación, se añade al agua dulce hipoclorito sódico y se deja actuar durante unos minutos para así favorecer la eliminación del corion del quiste. Este proceso se caracteriza por un cambio de color de los quistes que cambian de marrón a naranja al perder el corion.
- **Lavado:** Una vez terminada la descapsulación, se vierten los quistes sobre un tamiz de 132 μm y se lavan con abundante agua hasta que desaparezca el olor a hipoclorito sódico tal y como se muestra en la figura 19.



Figura 19. Lavado de quistes de artemia en tamiz de 132 μm (fuente: propia).

- **Incubación:** Durante la hidratación se llena un tanque cilíndrico con agua a una salinidad aproximada de 30 ‰, se le coloca una termoresistencia a 28 °C, aireación intensa e iluminación constante. Tras el proceso de lavado, se introducen los quistes en el tanque. Tras 24 horas tendrá lugar la eclosión de los quistes.
- **Cosecha:** Pasadas las 24 horas, se retira la aireación y la termoresistencia. Se coloca en el desagüe del tanque cilíndrico dos tamices, uno de 212 μm arriba y otro de 132 μm abajo. Tras esto abrimos la válvula inferior del tanque y comenzamos a cosechar con ayuda de una manguera de agua salada. Los nauplios eclosionados quedarán en el tamiz de 132 μm y los quistes en el de 212 μm . Los nauplios lo introducimos en un recipiente de agua salada y cogemos 1 mL de muestra para su posterior conteo. Posteriormente se extrapolan los datos para obtener así el número total de nauplios de artemias obtenidos.

En el caso de que se solicite un estadio de artemia superior (metanauplio o artemia adulta) hay que continuar con su cultivo de la siguiente manera:

- Colocamos los nauplios obtenidos en un tanque cilíndrico con agua salada a 25-28 °C y aireación, pasadas 36 horas desde la eclosión obtendríamos metanauplios de artemia, estadio que le sigue a los nauplios (Fig. 20). Estos habría que alimentarlos con microalgas, lo cual implica su cultivo continuo para asegurar

así su disponibilidad. Normalmente se les alimenta en días alternos, aunque puede ser diariamente también, con diferentes especies (*Tetraselmis chuii*, *Chaetoceros calcitrans*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Isocrysis* sp, etc...). La cantidad de alimento dependerá de la densidad del cultivo, tanto de microalgas como de artemia.

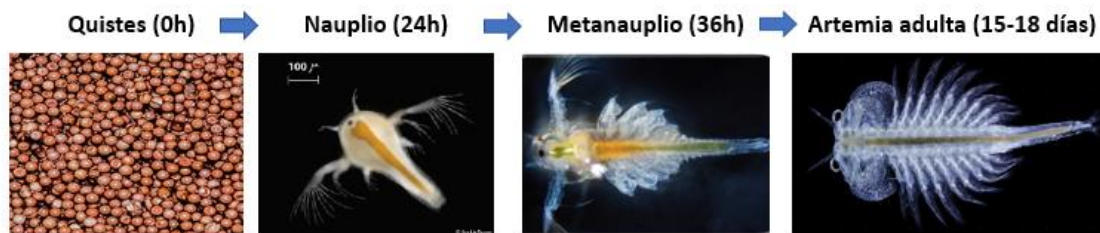


Figura 20. Estadios de la artemia (fuente: zootecniadomestica).

- Si queremos artemias adultas, continuamos con el cultivo. Cada 1 o 2 días paramos la aireación y dejamos decantar para purgar el tanque empleando un tamiz de 132 µm para evitar que se escapen los nauplios y metanauplios. De esta forma eliminamos residuos y artemia muerta.
- En estas condiciones de cultivo, obtendremos artemia adulta pasados 15-18 días. La artemia adulta se alimentan igual que los metanauplios.

Otros de los servicios solicitados al SCI-CM referentes a rotíferos y destinados a la docencia han sido:

- Suministro de rotífero para su uso en prácticas de Biología de los Grados de Química, Ciencias Ambientales y Ciencias del Mar.
- Suministro de rotífero para su uso en prácticas del Grado de Enología.

Para poder prestar el servicio de suministro de rotífero en el SCI-CM se lleva a cabo el cultivo y mantenimiento de este otro grupo de zooplancton.

El rotífero es un organismo filtrador del género *Brachionus*. Existen diferentes morfotipos de esta especie de diferentes tamaños.

En el SCI-CM se cultivan dos especies: *Brachionus plicatilis* denominada rotífero grande o S-1 y *Brachionus rotundiformis* denominada rotífero pequeño o B_s (Fig 21).

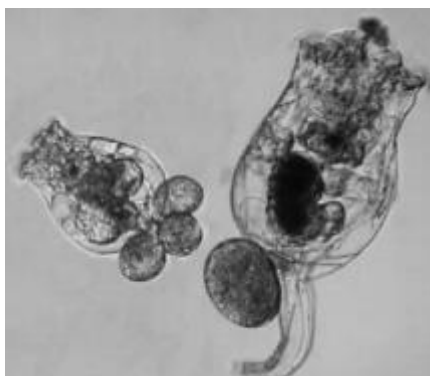


Figura 21. *Brachionus rotundiformis* (izq.) y *B. plicatilis* (dcha.) (Lubzens y Zmora, 2003).

Al poseer menor tamaño que los nauplios de artemia, los rotíferos y más específicamente *B. plicatilis* son un constituyente esencial en las primeras etapas de vida de peces marinos.

Los rotíferos tienen un escaso valor nutritivo *per se* pero debido a que son filtradores no-selectivos son presas idóneas para ser enriquecidas, constituyendo un “vector de transporte” de ácidos grasos esenciales y diversos componentes nutritivos para las larvas.

En el SCI-CM son alimentadas con microalgas: *Nannochloropsis gaditana* *Chlorella* sp. Y *Tetraselmis* sp. Por lo que el cultivo de rotíferos y su mantenimiento también implica el cultivo de microalgas explicado en el anterior apartado.

Ambas cepas se mantienen, a pequeña escala, separadas en matraces Erlenmeyer de 2L con un medio de cultivo (microalgas en fase exponencial de cultivo) y aireación suave, a una temperatura media de 21 °C que se consigue “al baño María” introduciendo el matraz en un cubo con agua dulce y una termoresistencia. Ambos matraces deben estar separados mediante barreras higiosanitarias para evitar la contaminación interespecífica (Fig. 22).



Figura 22. Cubos donde se encuentran los matraces con el cultivo de rotíferos (fuente: SCI-CM).

Es muy importante controlar diversos factores como son la alimentación, los parámetros físico-químicos, contaminación, etc., asegurando que las condiciones sean favorables, ya que influye sobre el tipo de reproducción que tendrá estos organismos (por partenogénesis o por vía sexual). En acuicultura interesa que la reproducción sea por partenogénesis ya que en ella la hembra (llamada amíctica) produce huevos diploides que luego darán origen a otras hembras amícticas, asegurando así un rápido crecimiento del cultivo. Un cambio en estos factores provocaría la aparición del ciclo sexual en el que aparecen los machos haploides y se crean huevos (sistema de resistencia) que no eclosionarán hasta que las condiciones vuelvan a ser favorables.

Para controlar el cultivo, diariamente a primera hora de la mañana se coge una muestra de ambas cepas y se observan al microscopio. En él observamos la movilidad y densidad de los rotíferos, número de hembras ovadas, así como la cantidad de alimento (fitoplancton) que hay en el cultivo. Estos datos son anotados en la ficha de registro de cultivos.

Según lo observado en la muestra, se procede a filtrarla y a añadir nuevo medio de cultivo. Esto permite el mantenimiento de las cepas.

La cosecha y mantenimiento de las cepas tiene lugar de la siguiente manera:

- Se prepara un matraz limpio de 2L con fitoplancton (1,5L), en él escribimos la fecha de siembra y la especie de rotífero con la que se rellenará. Luego colocamos el tapón y la varilla de aireación.

- Cogemos el matraz a filtrar y lo vertemos lentamente sobre un tamiz de 45 μm (B_s) o 69 μm (S-1) donde quedarán retenidos los rotíferos, enjuagando con agua salada continuamente.
- Volcamos el contenido del tamiz cuidadosamente sobre un vaso de precipitado con ayuda de una manguera de agua salada.
- Una vez que se encuentran en el vaso de precipitado todos los rotíferos, se vierte el volumen según densidad deseada en el matraz de 2L que hemos preparado previamente.
- Colocamos el matraz en el cubo de agua dulce que contiene la termoresistencia.
- Finalmente, limpiamos y desinfectamos todos los materiales utilizados en este procedimiento.

Ambos tipos de cultivos auxiliares (artemia y rotífero) se desarrollan en función de la necesidad requerida en cada momento, ya que aparte de solicitarse para la docencia e investigación se utiliza para la alimentación larvaria de peces en el SCI-CM.

d. Otras labores

Otros servicios solicitados al SC-ICM han sido:

- Suministro de agua salada.

Para poder prestar este servicio y asegurar una buena calidad del agua manteniendo unos buenos parámetros-físico químicos, es muy importante la limpieza de los dos tanques de distribución de 10 m³ situados en la unidad de captación y distribución de agua de mar. Esta limpieza tiene lugar aproximadamente cada mes y medio, y nunca puede realizarse al mismo tiempo para asegurar el aporte de agua a las unidades de cultivo. Además, es necesario un mantenimiento de las bombas sumergibles de los pozos, con cambios semestrales de los ánodos de sacrificio (ánodos de zinc).

- Realizar visitas con una explicación general de la planta de cultivos.

3. TRABAJOS EXPERIMENTALES

3.1 Proyectos de Investigación

3.1.1. Lenguados

El presente experimento ha supuesto una colaboración con el grupo de la Dra. M^a del Carmen Balebona de la Universidad de Málaga (UMA) y se realizó entre el 29 de mayo y el 1 de julio de 2019. El objetivo del experimento fue determinar la inmunogenicidad de dos proteínas aisladas de *Photobacterium* previamente aisladas por dicho grupo de investigación (la proteína AhpC y la proteína Sod). Para ello se procede a inyectar estas proteínas (100 µg de cada proteína por ejemplar lenguados) con el objeto de activar su sistema inmunitario generando anticuerpos contra dichas proteínas. Posteriormente, se obtiene el suero con alto contenido en estos anticuerpos.

En el experimento se utilizaron 35 lenguados (*Solea senegalensis*) de 120-130 gramos aproximadamente. 28 de ellos se emplearon en experimento en el SCI-CM y los otros 7 se trasladaron a la UMA. Los 28 lenguados se separaron en cuatro tanques de 450L (Fig. 23) constituyendo cuatro grupos experimentales:

- **Tanque 1:** Grupo AhpC, 7 peces inyectados con AhpC (Proteína antigénica) + adyuvante de Freud.
- **Tanque 2:** Grupo Sod, 7 peces inyectados con Sod (Proteína antigénica) + adyuvante de Freud.
- **Tanque 3:** Grupo sham (Control negativo), 7 peces inyectados con adyuvante de Freud.
- **Tanque 4:** Grupo control, 7 peces inyectados con PBS (Suero salino).



Figura 23. Tanques donde se distribuyeron los lenguados (fuente: SCI-CM).

En este experimento colaboré realizando las siguientes funciones:

- Preparación de tanques para introducir los ejemplares.
- Muestro biométrico de los 35 individuos para su posterior distribución en tanques.



Figura 24. Muestro biométrico de los ejemplares (fuente: propia).

- Mantenimiento diario de los ejemplares procurando que los tanques de cultivo estuvieran en óptimas condiciones de bienestar animal mediante la retirada de restos de pienso y heces, control de los parámetros fisicoquímicos, observación de los peces y alimentación.
- Apoyo en el proceso de inoculación de las proteínas inmunogénicas a los animales.
- Apoyo en el muestro final.



Figura 25. Inoculación animales (fuente: propia).

El experimento finalizó en las instalaciones del SCI-CM con un último muestreo en el que se realizó mediciones de peso y talla. Además, se obtuvieron muestras de mucus mediante raspado, y de sangre punción caudal para posteriormente obtener plasma. También se recogieron diversas muestras de tejidos: aparato digestivo (intestino, estómago, vesícula biliar e hígado), riñón cefálico, piel, branquias, bazo y gónada, para analizar en cada zona una posible respuesta inmune. Los ejemplares fueron sacrificados mediante sobredosis de fenoxietanol (1 mL/L agua).

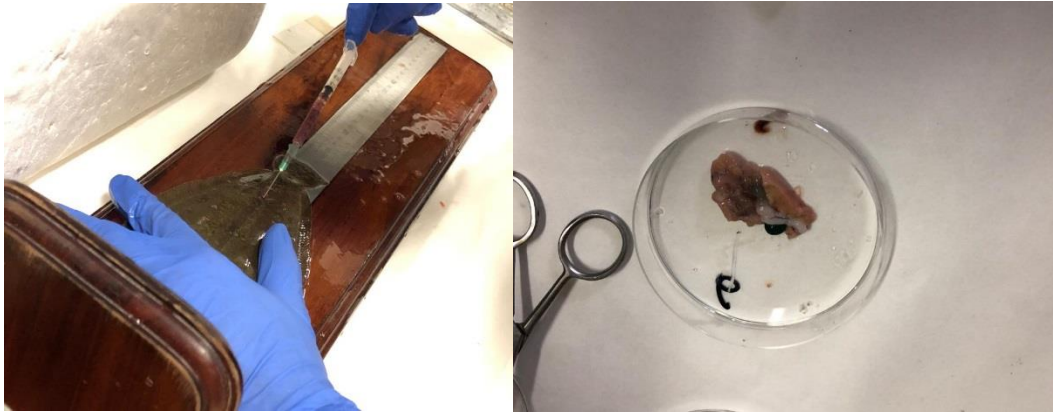


Figura 26. Extracción de sangre (a la izq.) y paquete visceral (a la dcha.) de un ejemplar de Solea senegalensis (fuente: propia).

3.1.2. Doradas

El presente experimento ha supuesto una colaboración con la estudiante doctoral Rocío Robles y se llevó a cabo en las fechas comprendidas entre el 25 de junio y el 5 de septiembre de 2019. El objetivo del experimento fue evaluar la influencia del contenido graso de la dieta y la suplementación de sales biliares en la digestión de lípidos en la dorada (*Sparus aurata*) utilizando tres dietas: dieta control (CONT), dieta con alto contenido lipídico (LIP) y dieta con alto contenido en lípidos y sales biliares (LIP+COL). Las dietas, elaboradas en la Universidad de Almería, fueron suministradas a los peces de forma manual a saciedad aparente.

En el experimento se utilizaron 96 doradas con un peso medio individual inicial de $219,14 \pm 2,45$ gramos.

Las 96 doradas se separaron en 6 tanques de 450L (Fig. 27) constituyendo tres grupos experimentales por duplicado.



Figura 27. Tanques donde se distribuyeron las doradas (fuente: SCI-CM).

En el presente experimento colaboré realizando las siguientes funciones:

- Preparación de tanques para introducir los ejemplares.
- Muestro biométrico de los 96 individuos para su posterior distribución en tanques.
- Mantenimiento y supervisión diaria de los ejemplares mediante la purga de los tanques para eliminar el resto de heces y pienso, control de los parámetros físico-químicos y observación de los peces para garantizar el bienestar animal.
- Alimentación manual diaria.
- Apoyo en muestreos realizados para el control biométrico de los ejemplares y limpieza de los tanques.
- Apoyo en el muestro final.

El experimento finalizó en las instalaciones del SCI-CM con un muestreo final que se desarrolló durante dos días consecutivos.

El primer día se muestrearon 5 individuos, que se encontraba en previo ayuno de 48 horas, de cada una de las réplicas por dieta.

El segundo día de muestreo, los individuos fueron alimentados y se realizó un muestreo secuencial, en el que cada hora, se muestreaban 5 individuos alternativamente de cada una de las réplicas por dieta, en cada punto de muestreo, en total 15 individuos cada hora.

- M1: 15 individuos en ayunas.
- M2: 15 individuos a los 60 minutos post feeding.
- M3: 15 individuos a los 120 minutos post feeding.
- M4: 15 individuos a los 180 minutos post feeding.
- M5: 15 individuos a los 240 minutos post feeding.
- M6: 15 individuos a los 300 minutos post feeding.

En cada punto de muestreo, se realizó mediciones de peso y talla y extracción de sangre de cada ejemplar. Las muestras de sangre se obtuvieron por duplicado, una de ellas se utilizó para obtener el pH de la sangre y la otra se centrifugó para la obtención de plasma.

Una vez extraída la sangre, tres de los peces se congelaron para su posterior procesado y los otros dos peces restantes se utilizaron para la extracción en fresco de bilis, obtención de paquete visceral (Fig. 28) y pesado del hígado, gónada y resto de vísceras. El intestino se separó y se midió.



Figura 28. Obtención de paquete visceral en un ejemplar de dorada (fuente: propia).

Además, se recogieron muestras de tejidos del hígado y de las tres partes del intestino (anterior, posterior y medio).

Los ejemplares fueron sacrificados mediante sobredosis de aceite de clavo.

3.2. Mejora continua

3.2.1. Microalgas

El experimento se llevó a cabo en las fechas comprendidas entre el 2 de julio y el 21 de agosto de 2019 en la cámara de microalgas del SCI-CM. El objetivo era comprobar si el crecimiento de diferentes microalgas que se cultivan en la planta de cultivos marinos era igual o similar en un medio de agua con mezcla (denominada agua 3:1, es decir, agua salada filtrada mezclada con agua dulce en una proporción 3:1) y agua sin mezcla (solo agua salada) mediante recuento celular. Esto supondría una mejora interna en la planta de cultivos ya que hasta la fecha se utilizaba agua 3:1 para el cultivo de las microalgas, disminuyendo de esta forma la salinidad del agua que constataron hace años era alta, y de resultar exitoso este experimento conllevaría un ahorro de tiempo y comodidad.

Las especies cultivadas fueron *Tetraselmis chuii*, *Chaetoceros calcitrans*, *Isocrysis* sp. y *Nannochloropsis gaditana*.

El cultivo de las microalgas se inició en matraces de 2, 1 y ½ L (Fig. 29) según la densidad del matraz y la velocidad de crecimiento de la especie, luego se fue realizando escalados hasta llegar a tubos de metacrilato de 14L. Estos cultivos fueron mantenidos con fotoperiodo 24h de luz a 19 °C. Los matraces de 2L, 1L y los tubos de 14L estaban provistos de sistema de aireación con aporte extra de CO₂. Todos los matraces y tubos contenían medio de cultivo F/2 y vitaminas necesarias para el crecimiento de las microalgas además de silicato para las diatomeas (*Chaetoceros calcitrans*).



Figura 29. Matrices de 2L, 1L y $\frac{1}{2}$ L con diferentes cultivos de microalgas (fuente: propia).

Cada experimento se realizó por duplicado en cuatro tubos de metacrilato, dos de ellos contenían la microalga en un medio con agua 3:1 y los otros dos tubos la microalga con agua sin mezclar (Fig. 30).



Figura 30. Tubos de metacrilato que contienen *Tetraselmis chuii* en un medio con agua 3:1 (2 tubos de la izq.) y en un medio de agua sin mezcla (2 tubos de la dcha.) (fuente: propia).

Cada día se hacía un control de la aireación, CO₂, temperatura y fotoperiodo, se realizaba una medida del pH y se cogían muestras de los tubos de metacrilato para hacer un conteo de células de microalgas. Tras llegar al final de la fase exponencial se desechaban los tubos ya que a partir de esta fase el cultivo no aumenta su concentración microalgal.

El recuento de las muestras se realizó en el microscopio óptico con el objetivo de 40x mediante el empleo de una Cámara Thoma (Fig. 31). La cámara está formada por dos cuadros centrales con una superficie de 1 mm², cada uno con 400 cuadros pequeños en su interior.

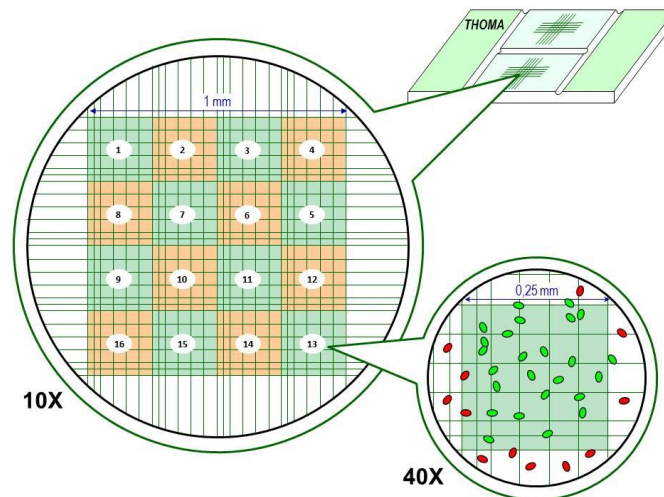


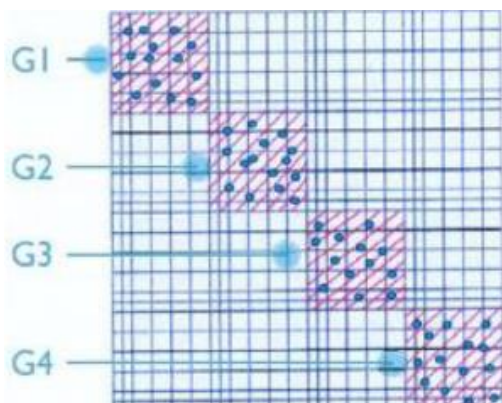
Figura 31. Cámara Thoma (fuente: insilico).

Para obtener el número total de células que hay en la muestra se ha de contar todas las que aparecen repartidas por los 400 cuadros pequeños de la cámara, contando también las que se encuentran en los bordes superior y derecho. Este recuento se realiza por duplicado, aplicando luego un valor medio, obteniendo como resultado el nº células/ml. Los cálculos se realizan usando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{nº células}}{\text{nº cuadros contados}} \times \frac{\text{cuadros de la cámara}}{\text{volumen de la cámara (0.1mm}^3\text{)}} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{nº cuadros 1ml}} = X \text{ cels/ml}$$

$$\text{nº células} \times 10000 = X \text{ cels/ml}$$

Si se observa a priori densidades muy elevadas o se trabaja con microalgas muy pequeñas, se sigue el método del recuento por grupos:



Este método consiste en contabilizar las células contenidas en los 100 cuadros pequeños (repartidos en grupos de 25 cuadros medianos marcados como G1, G2, G3 y G4). Hay que tener en cuenta que hemos contado $\frac{1}{4}$ de la cámara por lo que habrá que realizar una media aritmética modificando la ecuación anterior.

$$\frac{n^{\circ} \text{ células}}{100} \times \frac{400}{\text{volumen de la cámara (0.1mm}^3\text{)}} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{n^{\circ} \text{ cuadros 1ml}} = X \text{ cels/ml}$$

$$n^{\circ} \text{ células} \times 40000 \times \text{factor de dilución} = X \text{ cels/ml}$$

Los resultados obtenidos a lo largo del experimento fueron:

Tabla 2. Recuento celular *Chaetoceros calcitrans* (cels/ml)

Fecha	Tubo metacrilato 1 (Agua 3:1)	Tubo metacrilato 2 (Agua 3:1)	Tubo metacrilato 3 (Agua salada)	Tubo metacrilato 4 (Agua salada)
02-jul	$39,5 \cdot 10^5$	$44 \cdot 10^5$	$40 \cdot 10^5$	$52 \cdot 10^5$
03-jul	$72 \cdot 10^5$	$50 \cdot 10^5$	$54 \cdot 10^5$	$66,5 \cdot 10^5$
05-jul	$68 \cdot 10^5$	$53 \cdot 10^5$	$60 \cdot 10^5$	$63,5 \cdot 10^5$
08-jul	$76,5 \cdot 10^5$	$60 \cdot 10^5$	$89,5 \cdot 10^5$	$66 \cdot 10^5$
09-jul	$65 \cdot 10^5$	$93 \cdot 10^5$	$84,5 \cdot 10^5$	$73,5 \cdot 10^5$
10-jul	$158 \cdot 10^5$	$68,5 \cdot 10^5$	$97 \cdot 10^5$	$84 \cdot 10^5$
11-jul	$124,5 \cdot 10^5$	$134,5 \cdot 10^5$	$152 \cdot 10^5$	$76 \cdot 10^5$
12-jul	$147,5 \cdot 10^5$	$98 \cdot 10^5$	$151,5 \cdot 10^5$	$85,5 \cdot 10^5$

Tabla 3. Recuento celular *Tetraselmis chuii* (cels/ml)

Fecha	Tubo metacrilato 1 (Agua 3:1)	Tubo metacrilato 2 (Agua 3:1)	Tubo metacrilato 3 (Agua salada)	Tubo metacrilato 4 (Agua salada)
02-jul	$62 \cdot 10^4$	$41,5 \cdot 10^4$	$45 \cdot 10^4$	$58 \cdot 10^4$
03-jul	$58,5 \cdot 10^4$	$42,5 \cdot 10^4$	$65 \cdot 10^4$	$76 \cdot 10^4$
05-jul	$87 \cdot 10^4$	$65 \cdot 10^4$	$94,5 \cdot 10^4$	$51 \cdot 10^4$
08-jul	$144 \cdot 10^4$	$143,5 \cdot 10^4$	$116 \cdot 10^4$	$135,5 \cdot 10^4$
09-jul	$163 \cdot 10^4$	$147,5 \cdot 10^4$	$113 \cdot 10^4$	$114,5 \cdot 10^4$
10-jul	$184,5 \cdot 10^4$	$158 \cdot 10^4$	$136,5 \cdot 10^4$	$151 \cdot 10^4$
11-jul	$173 \cdot 10^4$	$172 \cdot 10^4$	$151 \cdot 10^4$	$134,5 \cdot 10^4$
12-jul	$188 \cdot 10^4$	$161 \cdot 10^4$	$129,5 \cdot 10^4$	$167 \cdot 10^4$

Tabla 4. Recuento celular *Isocrysis* sp. (cels/ml)

Fecha	Tubo metacrilato 1 (Agua 3:1)	Tubo metacrilato 2 (Agua 3:1)	Tubo metacrilato 3 (Agua salada)	Tubo metacrilato 4 (Agua salada)
08-jul	169,5·10 ⁵	193,5·10 ⁵	216,5·10 ⁵	163,5·10 ⁵
10-jul	154,5·10 ⁵	156,5·10 ⁵	138·10 ⁵	152,5·10 ⁵
11-jul	163·10 ⁵	187,5·10 ⁵	203·10 ⁵	187·10 ⁵
12-jul	157·10 ⁵	174,5·10 ⁵	189,5·10 ⁵	147·10 ⁵
15-jul	219·10 ⁵	205,5·10 ⁵	196,5·10 ⁵	215·10 ⁵

Tabla 5. Recuento celular *Nannochloropsis gaditana* (cels/ml)

Fecha	Tubo metacrilato 1 (Agua 3:1)	Tubo metacrilato 2 (Agua 3:1)	Tubo metacrilato 3 (Agua salada)	Tubo metacrilato 4 (Agua salada)
02-ago	228,5·10 ⁵	246,5·10 ⁵	243·10 ⁵	223,5·10 ⁵
05-ago	246·10 ⁵	235,5·10 ⁵	252·10 ⁵	223·10 ⁵
06-ago	244·10 ⁵	261,5·10 ⁵	210·10 ⁵	241,5·10 ⁵
07-ago	248,5·10 ⁵	215·10 ⁵	222,5·10 ⁵	223·10 ⁵
08-ago	255,5·10 ⁵	288,5·10 ⁵	212,5·10 ⁵	221,5·10 ⁵
09-ago	258,5·10 ⁵	274·10 ⁵	175'5·10 ⁵	212'5·10 ⁵
12-ago	254·10 ⁵	288,5·10 ⁵	235·10 ⁵	217·10 ⁵
13-ago	286·10 ⁵	293·10 ⁵	217,5·10 ⁵	248,5·10 ⁵
14-ago	301·10 ⁵	251,5·10 ⁵	195,5·10 ⁵	217·10 ⁵
16-ago	358·10 ⁵	309·10 ⁵	242·10 ⁵	221,5·10 ⁵
19-ago	315·10 ⁵	328·10 ⁵	214,5·10 ⁵	179,5·10 ⁵
20-ago	320·10 ⁵	345·10 ⁵	207·10 ⁵	227,5·10 ⁵
21-ago	353,5·10 ⁵	315·10 ⁵	237·10 ⁵	208·10 ⁵

A la vista de los resultados no existen diferencias significativas entre los datos obtenidos, es decir, las microalgas crecen de manera similar en un medio que en otro, por lo que afirmamos que se puede utilizar como medio de cultivo el agua salina captada directamente del acuífero sin necesidad de tener que reducir su salinidad con agua dulce.

3.2.2. Artemia

El último experimento llevado a cabo durante mis prácticas tuvo lugar entre el 23 de julio y el 7 de agosto de 2019 y consistió en modificar el protocolo para descapsular artemia que se utilizaba en la planta de cultivos hasta el momento, con el fin de ahorrar tiempo y recursos.

En el experimento cada día se hacían dos descapsulaciones utilizando 1 gramo de artemia en cada una de ellas.

Una de las descapsulaciones se hacía siguiendo el protocolo utilizado normalmente (denominada control) y en la otra descapsulación se debía cambiar el valor de un parámetro del protocolo original (denominada experimento), comprobando en cuál de los dos casos se obtenían mejores resultados.



Figura 32. Troncos cónicos donde se realizan las dos descapsulaciones (tanque experimento a la izq. y tanque control a la dcha.) (fuente: propia).

Para ver cuál de los dos casos ha sido más efectivo, a las 24 horas aproximadamente, realizamos un recuento de los nauplius de artemia en la lupa binocular (Fig. 33), extrapolamos los datos y así obtenemos el número de nauplius por gramo y el porcentaje de mortalidad.

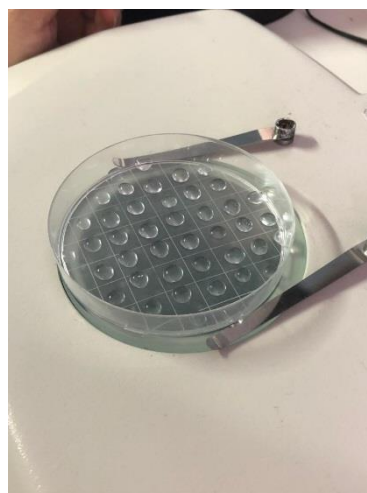


Figura 33. Placa de Petri con nauplius de artemia en lupa binocular para proceder al recuento (fuente: propia).

De cada experimento se hacía una réplica y los parámetros que variamos fueron los siguientes:

- **Tiempo de hidratación:** En vez de 1 hora y media empleábamos 1 hora.
- **Volumen de hipoclorito sódico empleado para descapsular:** 100 ml en vez de 500 ml.
- **Tiempo de descapsulación:** 2 minutos en vez de 8 minutos.
- **Tiempo de incubación:** 20 horas en vez de 24 horas.
- **Temperatura de Incubación:** 25 °C en vez de 28 °C.

Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Tabla 6. Resultados obtenidos en el experimento

Fecha	Experimento	Agua Hidratación	Volumen Hidratación (L)	Artemia (g)	Tiempo Hidratación (hr.)	Hipoclorito sódico puro/mezcla	Volumen Hipoclorito sódico (ml)	Tiempo descapsulación (min)	Volumen Incubación (L)	T* Incubación (°C)	Tiempo Incubación (hr.)	N° Nauplii art/l gr.	Mortalidad (%)	Observaciones
22-jul	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	28	24	305.000	8'9	
	Control	Dulce	6	1	1'5	Pura	100	8	35	28	24	267.500	5'3	
29-jul	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	28	24	327.500	10'2	
REPLICA	Control	Dulce	6	1	1'5	Pura	100	8	35	28	24	275.500	4'6	Ha estado a 30°C durante unas horas
23-jul	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	500	8	35	28	24	277.500	25	T* baja durante unas horas (25-26°C)
	Control	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	28	24	302.500	13	
30-jul	Experimento	Dulce	6	1	1'5	Pura	500	8	35	28	24	282.500	11	
REPLICA	Control	Dulce	6	1	1'5	Pura	100	8	35	28	24	327.500	4'4	
24-jul	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	100	2	35	28	24	297.500	0'8	
	Control	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	28	24	297.500	6'2	
31-jul	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	100	2	35	28	24	197.500	9'2	
REPLICA	Control	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	28	24	162.500	18'7	
25-jul	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	25	24	260.000	18'7	
	Control	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	28	24	250.000	9'1	
01-agost	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	25	24	362.500	3'4	
REPLICA	Control	Dulce	6	1	1	Pura	100	8	35	28	24	267.500	2'7	
05-jul	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	100	2	35	28	20	157.500	18	
	Control	Dulce	6	1	1	Pura	100	2	35	28	24	222.500	7'2	
06-JUL	Experimento	Dulce	6	1	1	Pura	100	2	35	28	20	302.500	3'3	
REPLICA	Control	Dulce	6	1	1	Pura	100	2	35	28	24	277.500	4'3	

A la vista de los resultados podemos ver como se obtienen mejores resultados al emplear el nuevo procedimiento, excepto en el caso del tiempo y temperatura de incubación, en los que al no haber diferencias significativas se decide seguir utilizando los valores del protocolo anterior.

Por lo que el presente experimento ha supuesto una mejora interna para el Servicio, suponiendo un ahorro de tiempo y recursos, utilizándose en la actualidad dicho protocolo.

4. CONCLUSIONES Y VALORACIÓN PERSONAL

Mi elección por realizar las prácticas en los Servicios Centrales de Investigación en Cultivos Marinos de la Universidad de Cádiz está ligada a mis expectativas de futuro. Entre mis objetivos se encuentra sumar a mis conocimientos académicos adquiridos a lo largo del Grado en Ciencias del Mar y del Máster en Acuicultura y Pesca una experiencia en el mundo laboral con el fin de completar mi formación.

Durante los nueve meses de prácticas, he realizado tareas propias de un técnico de acuicultura, contando siempre con la ayuda de los técnicos que trabajan en el SCI-CM. Gracias a ellos y al periodo de prácticas realizado, he podido desarrollar y afianzar conocimientos previos, así como aprender mucho más sobre conceptos y métodos ligados a esta profesión.

Esta experiencia ha sido muy enriquecedora y gratificante pues me ha dado la oportunidad de conocer el funcionamiento de una Planta de Cultivos Marinos, así como todos los procedimientos que allí se realizan. Debo agradecer al SCI-CM la oportunidad que me ha brindado realizando estas prácticas y poder comprobar de primera mano la gran labor que realizan.

Gracias a cada uno de mis compañeros: Carmen Mari, Carmen Mari “chica”, Conchi, Jaime, Jesús, María, M^a del Mar, Nazareth, Óscar y Raúl, por el trato recibido durante estos nueve meses, por hacerme sentir integrada desde el primer día, por hacer que acuda cada día con ganas e ilusión, por enseñarme con tanto interés y, sobre todo, con tanto cariño. Solo tengo palabras de agradecimiento y cariño para vosotros. No olvidaré nunca este periodo que tanto me ha enriquecido no solo profesionalmente sino personalmente.

Agradecer a la Dra. M^a del Carmen de la Universidad de Málaga y a la estudiante predoctoral Rocío Robles de la Universidad de Cádiz por brindarme la oportunidad y confianza de dejarme formar parte de sus experimentos y dándome la posibilidad de aportar algo de investigación a este TFM.

Mi más sincero agradecimiento a Mariano que desde el principio me ha apoyado, ayudado y aconsejado para que esta experiencia sea lo más provechosa posible.

Por último, agradecer a mis tutores, tanto a mi tutor de prácticas (D. Mariano García de Lara), como a mi tutor académico (Dr. Juan Miguel Mancera) por guiarme en este TFM y por todo el tiempo dedicado.

Ha sido un privilegio poder haber compartido esta etapa con todos vosotros. Gracias.

5. BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, J. (2018): Personal técnico de apoyo y de gestión de la I+D+i en el marco de Sistema Nacional de Garantía Juvenil y del Programa Operativo de Empleo Juvenil. Memoria técnica laboral del SCI-CM, Cádiz, Universidad de Cádiz.

Herrero del Río, J. M. (2019): Gestión de instalaciones acuícolas para I+D y Bienestar animal. Máster Acuicultura y Pesca, Universidad de Cádiz.

Lubzens, E. y Zmora, O. (2003): Production and nutritional value of Rotifers. In: Live feeds in aquaculture. Stotttrup, J.G. & McEvoy, L.A. (Eds) Blackwell Science, pp. 17-64.

Moreno, I. (2019): Utilización de microalgas marinas. Máster Acuicultura y Pesca, Universidad de Cádiz.

Rendón, M. C. (2019): Técnicas de producción de zooplancton marino. Máster Acuicultura y Pesca, Universidad de Cádiz.

Salamanca de las Nieves, N. (2015): Técnicas específicas de cultivos en organismos marinos. Trabajo de Fin de Grado, Cádiz, Universidad de Cádiz.

Vázquez, R. (2019): *Procesos biológicos de interés en acuicultura: aspectos básicos y aplicados al Bienestar animal: técnicas de anestesia y analgesia*. Escuela Internacional Doctoral en estudios del mar (EIDEMAR), Universidad de Cádiz.